

IN THE UNITED STATES PATENT AND TRADEMARK OFFICE

In re application of: Takeo TANAAMI, et al.

Serial Number: Not Yet Assigned

Filed: November 7, 2003

Customer No.: 38834

For: A DETECTOR CALIBRATION METHOD AND POWER MEASUREMENT
INSTRUMENTS USING THE METHOD

CLAIM FOR PRIORITY UNDER 35 U.S.C. 119

Commissioner for Patents
P. O. Box 1450
Alexandria, VA 22313-1450

November 7, 2003

Sir:

The benefit of the filing date of the following prior foreign application is hereby requested for the above-identified application, and the priority provided in 35 U.S.C. 119 is hereby claimed:

Japanese Appln. No. 2002-360653, filed on December 12, 2002

In support of this claim, the requisite certified copy of said original foreign application is filed herewith.

It is requested that the file of this application be marked to indicate that the applicants have complied with the requirements of 35 U.S.C. 119 and that the Patent and Trademark Office kindly acknowledge receipt of said certified copy.

In the event that any fees are due in connection with this paper, please charge our Deposit Account No. 50-2866.

Respectfully submitted,
WESTERMAN, HATTORI, DANIELS & ADRIAN, LLP



Ken-Ichi Hattori
Reg. No. 32,861

Atty. Docket No.: 032086
1250 Connecticut Ave, N.W., Suite 700
Washington, D.C. 20036
Tel: (202) 822-1100
Fax: (202) 822-1111
KH/amr

日本国特許庁
JAPAN PATENT OFFICE

別紙添付の書類に記載されている事項は下記の出願書類に記載されている事項と同一であることを証明する。

This is to certify that the annexed is a true copy of the following application as filed with this Office.

出願年月日 2002年12月12日
Date of Application:

出願番号 特願2002-360653
Application Number:

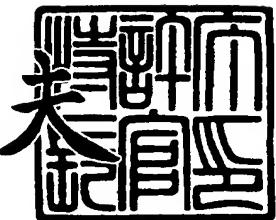
[ST. 10/C] : [JP2002-360653]

出願人 横河電機株式会社
Applicant(s):

2003年8月11日

特許庁長官
Commissioner,
Japan Patent Office

今井康



【書類名】 特許願

【整理番号】 02A0240

【あて先】 特許庁長官殿

【国際特許分類】 G01J 1/00

【発明者】

【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内

【氏名】 田名網 健雄

【発明者】

【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内

【氏名】 杉山 由美子

【発明者】

【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内

【氏名】 佐藤 紗綾

【発明者】

【住所又は居所】 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号 横河電機株式会社内

【氏名】 片倉 久雄

【特許出願人】

【識別番号】 000006507

【氏名又は名称】 横河電機株式会社

【代表者】 内田 黙

【手数料の表示】

【予納台帳番号】 005326

【納付金額】 21,000円

【提出物件の目録】

【物件名】 明細書 1

【物件名】 図面 1

【物件名】 要約書 1

【プルーフの要否】 要

【書類名】 明細書

【発明の名称】 光量検出器の校正方法および光量測定装置

【特許請求の範囲】

【請求項 1】

光パワーの国家標準にトレーサビリティがとれたパワーメータにより、1次元または2次元状に配列した受光素子アレイを持つ光量検出器の各受光素子の受光光量と光量検出器の出力信号を校正し、光量検出器の出力信号から光源の光量の空間分布と共に国家標準にトレーサビリティがとれた光パワーの値を直接測定することができるようとした光量検出器の校正方法。

【請求項 2】

前記光量検出器の校正は、照明用基準光源を前記パワーメータで値付けし、次にその照明用基準光源により光量検出器を値付けすることにより行うことを特徴とする請求項 1 記載の光量検出器の校正方法。

【請求項 3】

前記光量検出器は、複数の受光素子からなる受光部を持つカメラであることを特徴とする請求項 1 または 2 記載の光量検出器の校正方法。

【請求項 4】

請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の光量検出器の校正方法により校正された光量検出器を備え、バイオチップまたは細胞または蛍光塗布体または蛍光性塵埃を測定する光量測定装置。

【請求項 5】

請求項 1 ないし 3 のいずれかに記載の光量検出器の校正方法により校正された光量検出器と、

蛍光物体からの蛍光光量を検出した光量検出器の出力信号と、蛍光色素から発生する光量の関係式とから、蛍光物体の分子数を算出する手段を備え、蛍光物体の光量または分子数あるいは光量と分子数を直接推定することができる光量測定装置。

【発明の詳細な説明】

【0001】

【発明の属する技術分野】

本発明は、光量検出器の校正方法およびその校正方法により校正された光量検出器を用いた光量測定装置に関する。光量検出器としては、例えば、複数の受光素子からなる受光部を持つカメラである。

【0002】

【従来の技術】

従来より、生体高分子などの同定・分画（例えば、DNAの検出、遺伝子DNAの有無検出）にはDNAチップが使用される。

DNAチップは、例えば数千から数万種類の既知のDNAの断片を基板上のサイトにそれぞれ固定したものである。このようなDNAチップに未知のDNAの断片を流すと、同じ種類のDNA同士がハイブリダイズして結合する。結合しなかった未知のDNAを洗浄により除去した後、残ったDNAに励起光（レーザ光）を照射する。未知のDNAにはあらかじめ蛍光物質が標識されており、励起光の照射により励起された蛍光物質からは蛍光が発生する。その結果、ハイブリダイゼーションが生じたか否かに対応してサイトごとに明暗が現れる。

【0003】

この明暗観察は、共焦点レーザー光学系による蛍光スキャニング装置などで行われる（例えば、非特許文献1参照）。蛍光観察の検出器としては、高感度検出が可能なフォトマルチプライヤー（Photo multiplier）などが利用される。

なお、検出器としてパワーメータを利用する場合もあるが、パワーメータは零次元の検出しかできないため、DNAチップをはじめとするバイオチップや、プラズマディスプレイなどのような形状を持った試料は計測できない。

【0004】

【非特許文献1】

牧野徹・狩野恭一、会誌「光学」 ライフサイエンスにおける光技術 「DNA解析と光技術」、第28巻10号（1999）、（社）応用物理学会分科会日本光学会、1999年、p549～552

【0005】

【発明が解決しようとする課題】

ところで、従来のこのような検出器では、絶対光量が測定できないため次のような課題があった。

- (1) 装置間で検出器の出力信号の値が比較できない。
- (2) バイオチップ計測においては遺伝子発現量が不明のため、既知の遺伝子などを混入させて比較測定するしかなく、そのため装置が高価になる。

【0006】

本発明の目的は、上記の課題を解決するもので、絶対光量が測定できる光量検出器の校正方法を提供することにある。

本発明の他の目的は、その校正方法により校正された光量検出器を用い、蛍光分子の数などを直接推定することのできる光量測定装置を提供することにある。

【0007】

【課題を解決するための手段】

このような目的を達成するために、請求項1の発明は、

光パワーの国家標準にトレーサビリティがとれたパワーメータにより、1次元または2次元状に配列した受光素子アレイを持つ光量検出器の各受光素子の受光光量と光量検出器の出力信号を校正し、光量検出器の出力信号から光源の光量の空間分布と共に国家標準にトレーサビリティがとれた光パワーの値を直接測定することができるようとしたことを特徴とする光量検出器の校正方法である。

このような校正方法によれば、光量検出器での絶対光量測定が可能となる。

【0008】

この場合、前記光量検出器の校正は、請求項2のように、照明用基準光源を前記パワーメータで値付けし、次にその照明用基準光源により光量検出器を値付けする。

また、前記光量検出器としては、請求項3のように複数の受光素子からなる受光部を持つカメラが使用可能である。

【0009】

請求項4の発明は、

請求項1ないし3のいずれかに記載の光量検出器の校正方法により校正された光量検出器を備え、バイオチップまたは細胞または蛍光塗布体または蛍光性塵埃

を測定する光量測定装置である。

【0010】

また、請求項5の発明は、

請求項1ないし3のいずれかに記載の光量検出器の校正方法により校正された光量検出器と、

蛍光物体からの蛍光光量を検出した光量検出器の出力信号と、蛍光色素から発生する光量の関係式とから、蛍光物体の分子数を算出する手段を備え、蛍光物体の光量または分子数あるいは光量と分子数を直接推定することができる光量測定装置である。

【0011】

また、請求項6のように、請求項4または5の光量測定装置において、受光素子としては、1次元アレイ状または2次元アレイ状に配列された受光素子を使用することができる。

【0012】

【発明の実施の形態】

以下図面を用いて本発明を詳しく説明する。図1は本発明に係る校正方法の原理を説明するための図である。図1（a）において、1はパワーメータ、2は光学顕微鏡、3はLEDなどの照明用基準光源である。

パワーメータ1は、光パワーの国家標準にトレーサビリティがとれたものであり、国家標準と互換性のあるものである。このパワーメータ1により顕微鏡2経由の照明用基準光源3の光量を測定し、パワーメータ1を基準にして照明用基準光源3の光量を校正する。

【0013】

次に、図1（b）に示すように、その校正された照明用基準光源3の光量を顕微鏡2を介して光量検出器（例えばカメラ）4の受光素子（図示せず）で検出する。これによりカメラ4の受光素子の受光光量とカメラの出力信号の関係を校正することができる。

【0014】

図2にこのような校正方法による校正結果の一例を示す。図は受光素子の単位

面積当たりの絶対光量とカメラの輝度信号出力の階調との関係を表す。光源3が緑色の光である場合は、 $Y=2.61E-06X+2.57E-05$ 、光源3が赤色の光である場合は、 $Y=1.81E-06X-5.26E-05$ の関係となる。なお、式中のXは階調、Yは光量である。

【0015】

このようにして校正されたカメラをバイオチップ読取装置（例えば、本願出願人が提案した特開2001-311690号に記載のバイオチップ読取装置など）の受光器に用いると、測定した画像の階調値から直接蛍光光量を測定することができる。

【0016】

他方、蛍光色素から発生する光量は以下の演算処理により求めることができる。

蛍光色素によって吸収される光のパワー ΔI は、次式で与えられる。

$$\Delta I = 2.3 \times 10^3 \times \alpha \times I_0 \times n / (N_A \times S) \quad [W] \quad \cdots (1)$$

ただし、

α : モル吸光係数 $8 \times 10^4 \text{ [M}^{-1} \text{ cm}^{-1}\text{]}$

I_0 : 入射光量 [W]

n : 分子数 [個]

N_A : アボガドロ数 6×10^{23}

S : 面積 [cm²]

である。

これに量子効率などを考慮することで蛍光色素から発生する蛍光光量を推定することができる。

【0017】

したがって、上記校正方法によって校正されたカメラを用いて計測した蛍光光量と上記推定した蛍光光量の値を対応させることにより、バイオチップ上の蛍光分子の数nを直接推定することができる。

【0018】

なお、本発明は、上記実施例に限定されることなく、その本質から逸脱しない

範囲で更に多くの変更、変形をも含むものである。

例えば、バイオチップに限らず、一般の細胞や、半導体プロセスにおけるゴミ（蛍光性塵埃）、プラズマパネルなどの蛍光塗布体なども計測可能である。

【0019】

また、受光器としては、受光素子が2次元状に配列されたいわゆる2次元アレイ状のものに限らず、図3に示すように受光素子が1次元状に配列されたラインセンサ4aも使用可能である。この場合、ステージ（図示せず）を付加して、サンプル5をラインセンサ4aの配列方向と直交する方向に移動させて、サンプルの2次元画像を検出するようにしてもよい。

【0020】

また、カメラと光学系の間にイメージインテンシファイアなどの光量増幅系を挿入してもよい。これによって微弱光も測定可能となる。なお、この場合は、イメージインテンシファイアも含めた形で校正を行う必要がある。

【0021】

【発明の効果】

以上説明したように本発明によれば次のような効果がある。

（1）受光素子を並べた受光部を持つカメラを、国家基準からトレーサブルなパワーメータにより各受光素子について受光光量とカメラ出力を校正するため、カメラ出力から絶対光量を直接測定できる。

（2）このように校正されたカメラを用いれば、蛍光測定用の各装置間の光量測定誤差を容易に減らすことができる。

【0022】

（3）蛍光分子の数も分るため、工程管理指標を明確化し、サンプル処理のプロセスの改善が容易になり、また容易に高精度化もできる。

（4）さらにサンプル自身もリファレンス用に付加するダミーサンプルを減らせるため、容易にコストダウンを図ることができる。

【図面の簡単な説明】

【図1】

本発明に係る校正方法の原理を説明するための説明図である。

【図2】

校正結果の一例を示す図である。

【図3】

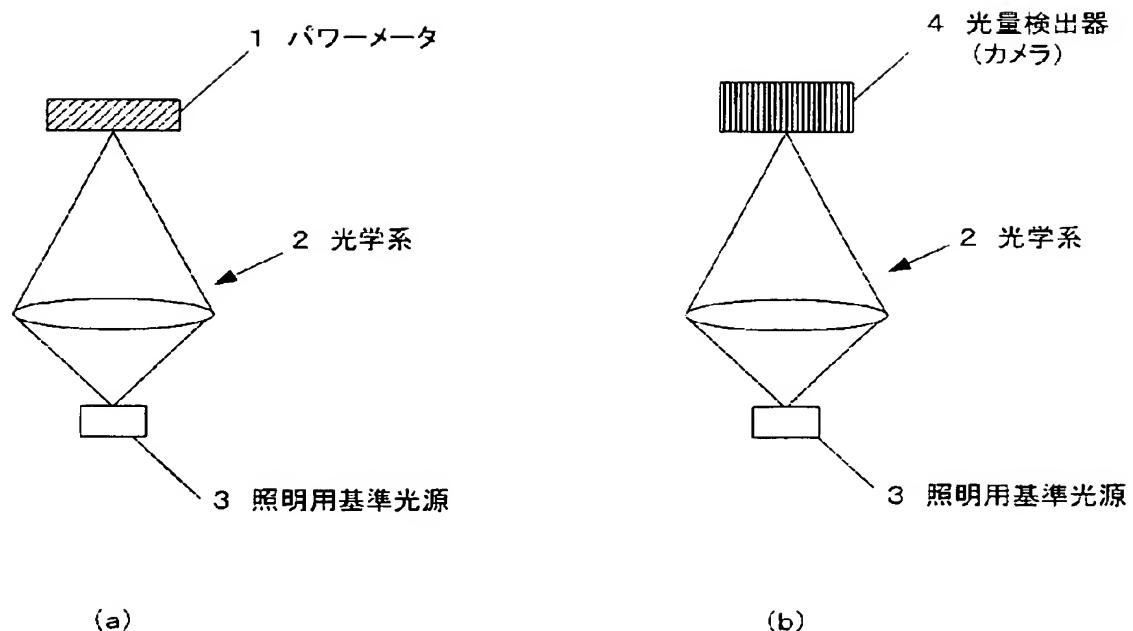
1次元状に配列の受光素子を用いた場合の実施例図である。

【符号の説明】

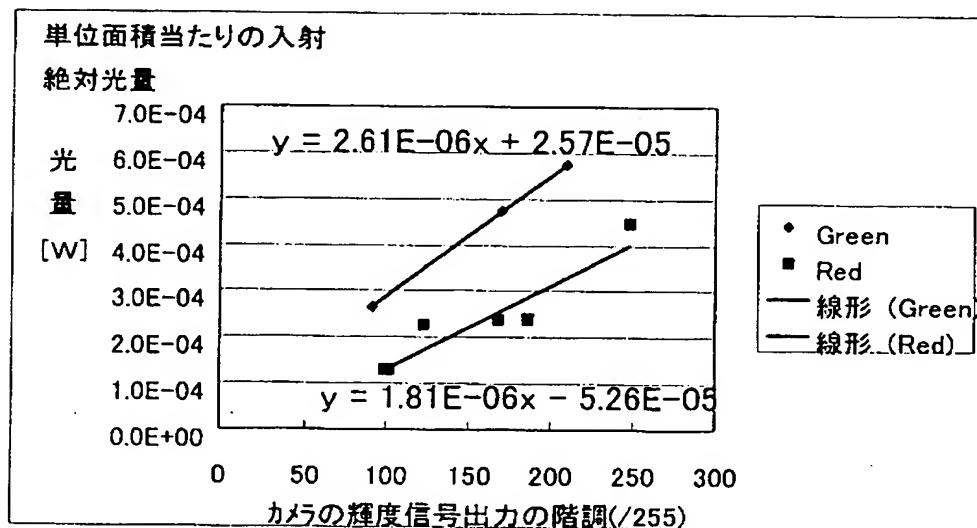
- 1 パワーメータ
- 2 光学顕微鏡
- 3 照明用基準光源
- 4 光量検出器
- 4 a ラインセンサ
- 5 サンプル

【書類名】 図面

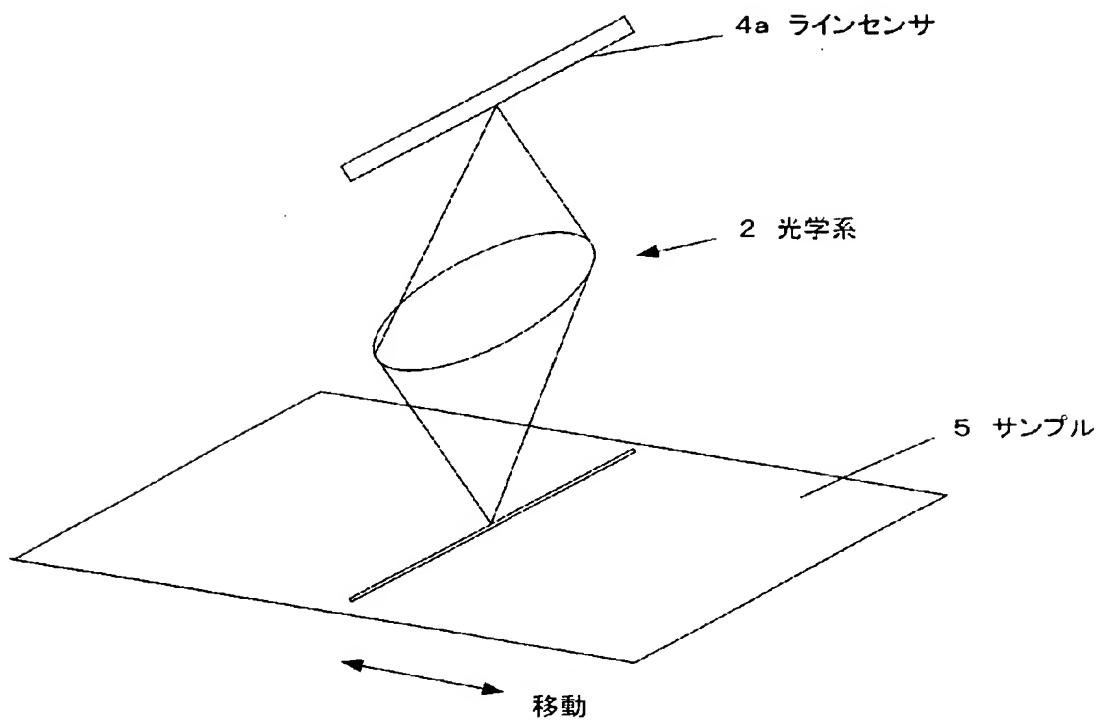
【図1】



【図2】



【図3】



【書類名】 要約書

【要約】

【課題】 絶対光量が測定できる光量検出器の校正方法を提供する。

【解決手段】 光パワーの国家標準にトレーサビリティがとれたパワーメータにより、1次元または2次元状に配列した受光素子アレイを持つ光量検出器の各受光素子の受光光量と光量検出器の出力信号を校正し、光量検出器の出力信号から光源の光量の空間分布と共に国家標準にトレーサビリティがとれた光パワーの値を直接測定することができるようとする。

【選択図】 図 1

認定・付加情報

特許出願の番号	特願2002-360653
受付番号	50201882866
書類名	特許願
担当官	第一担当上席 0090
作成日	平成14年12月13日

<認定情報・付加情報>

【提出日】	平成14年12月12日
-------	-------------

次頁無

特願2002-360653

出願人履歴情報

識別番号 [000006507]

1. 変更年月日 1990年 8月10日
[変更理由] 新規登録
住 所 東京都武蔵野市中町2丁目9番32号
氏 名 横河電機株式会社